

Характеристика устойчивости клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 и их ОСК к действию γ -излучения

А.П. Кувырченкова^{1,2}, В.Г. Перевозчикова¹

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

²Московский физико-технический институт (государственный университет)

Практически во всех типах опухолей присутствуют стволовые клетки (ОСК), которые играют важную роль в развитии опухолевого процесса и метастазировании [1]. ОСК устойчивы к действию различных повреждающих факторов, в том числе к действию ионизирующего излучения [2]. Культивирование клеток в виде 3D-культур приводит к увеличению фракции ОСК в популяции. ОСК аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7 характеризуются фенотипом CD44⁺/CD24^{-low} [3]. Целью исследования было изучение чувствительности клеток линии MCF-7, культивируемых в виде 3D-культуры, обогащенной ОСК, и в виде прикрепляющейся 2D-культуры, к γ -излучению.

3D-культуру клеток линии MCF-7 получали при культивировании клеток 2D-культуры в низкоадгезивных условиях в среде, содержащей 20 нг/мл, 10 нг/мл bFGF, 2% специальной добавки B27, 10 мкг/мл инсулина, 4 мкг/мл гепарина, 50 мкг/мл гентамицина [4]. Клетки 2D- и 3D-культур облучали в дозах 1, 2, 4 и 8 Гр на установке ГУТ-200М, укомплектованной источником излучения ⁶⁰Со. Выживаемость клеток анализировали путем подсчета в камере Горяева на 1, 7 и 14 сутки после облучения. Для характеристики чувствительности клеток к действию γ -излучения использовали величину D₀, которую определяли по графику дозовой зависимости [5]. Субпопуляцию клеток с фенотипом CD44⁺/CD24^{-low} определяли с помощью проточной цитометрии.

На 7 сутки после облучения D₀ была равна 2,6±0,00 Гр и 1,84±0,14 Гр для 2D- и 3D-культур соответственно, но на 14 сутки – D₀ для 2D-культуры была равна 0,9±0,07 Гр, для 3D-культуры – 7,55±0,21 Гр. Количество ОСК в необлученной 2D-культуре составило 0,24±0,11%, а в 3D-культуре – 3,16±0,61%. На 7 сутки после облучения клеток в дозе 8 Гр доля ОСК в 2D-культуре составила 1,53%, а в 3D-культуре – 5,99%; на 14 сутки – 2,16% и 11,99% в 2D- и 3D-культурах соответственно, что свидетельствует о более высокой радиоустойчивости ОСК.

Таким образом, показано, что клетки линии MCF-7 в виде 3D-культуры были значительно более устойчивы к действию γ -излучения, чем клетки, культивируемые в виде 2D-культуры. При фенотипировании выявлено более высокое содержание фракции ОСК в 3D-культуре. Обнаружена высокая радиоустойчивость фракции ОСК в 2D- и 3D-культурах клеток линии MCF-7.

Литература

1. Dalerba P, Cho RW, Clarke MF. Cancer stem cells: models and concepts // Annu Rev Med – 2007. – N 58 – P. 267-284.
2. Hong Y, Stambrook PJ. Restoration of an absent G1 arrest and protection from apoptosis in embryonic stem cells after ionizing radiation. // Proc Natl Acad Sci USA– 2004. – N 101 – P. 14443-14448.
3. Биология стволовых клеток и клеточные технологии. Том 1 / Под ред. М. А.Пальцева.— М.: ОАО «Издательство «Медицина», издательство «Шико», 2009. 272 с.
4. Weiswald L. B., Bellet D., Dangles-Marie V. Spherical cancer models in tumor biology // Neoplasia. – 2015. – V. 17, N 1. – P. 1-15.
5. М. С. Джойнер, О. Дж. ван дер Когель Основы клинической радиобиологии —М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. 607 с.